Həyat elmləri və biotibb jurnalı, cild 74, №2, səh. 42-51 (2019)

Антиапоптотическая функция серотонинергической системы в отношении неоникотиноида актары

Т.Н. Аллахвердиева[1], А.В. Аминов[2], А.А. Мехтиев[2]*

[1]*Азербайджанский государственный аграрный университет МСХ АР, пр. Ататюрка, 262, Гянджа AZ2000, Азербайджан*
[2]*Институт физиологии им. академика А.Гараева НАН Азербайджана, Шарифзаде, 2, Баку AZ1100, Азербайджан; *E-mail: arifmekht@yahoo.com*;
Принято к печати: 04.10.2019

Изучалась роль серотонинергической системы в феномене прекондиционирования и защите тканей рыб от воздействия неоникотиноидного инсектицида актары, сублетальную концентрацию которого рассчитывали методом Finney на особях сазанов (*Cyprinus carpio* Linne). Устойчивость к воздействию летальной концентрации (400 мг/л, 5 сут) инсектицида вырабатывали с помощью процедуры прекондиционирования (100 мг/л, 1 сут). Методом непрямого твёрдофазного иммуноферментного анализа в головном мозге и печени у рыб определяли уровень серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка (СМАБ; Мехтиев, 2000), находящегося в прямой зависимости от уровня серотонина. Изучали влияние внутримышечного введения СМАБ на выживаемость особей сазана в условиях воздействия летальных концентраций инсектицида. Методом Асакавы и Матсушита (1980) определяли степень перекисного окисления липидов по уровням малонового диальдегида и гидроперекисей в головном мозге, печени и жабрах особей, подвергнутых воздействию сублетальных концентраций инсектицида и получивших внутримышечную инъекцию СМАБ. Сублетальная концентрация инсектицида актары для особей сазана была равна 360 мг/л. Показано, что искусственное повышение в результате прекондиционирования активности серотонинергической системы в отношении инсектицида актары или внутримышечного введения СМАБ особям сазана, подвергнутым в последующем воздействию летальных концентраций инсектицида, способствует их выживанию и нормализации уровня перекисного окисления липидов в тканях. Делается заключение об антиапоптотической функции СМАБ в отношении воздействия летальных концентраций неоникотиноидного инсектицида актары на особей сазана.

Ключевые слова: *Неоникотиноидный инсектицид актары, особи сазана, феномен прекондиционирования, серотонин-модулируемый антиконсолидационный белок (СМАБ), перекисное окисление липидов*

ВВЕДЕНИЕ

Наряду с промышленными выбросами химических отходов, в сельском хозяйстве в целях борьбы с насекомыми-вредителями широкое применение получили инсектициды. Следует, однако, указать на то, что они оказывают негативное и даже разрушительное воздействие не только на насекомых, но и на крупных животных, в том числе на рыб. Злободневность проведения исследований влияния инсектицидов на рыб обусловлена тем, что током воды инсектициды вымываются с посевных полей и попадают в реки, озёра и водохранилища, значительно удалённые от места их применения, и оказывают неблагоприятное влияние на живущих в них живых организмов. Следует указать на то, что инсектициды, оказывая таргетное негативное воздействие на конкретные системы организма насекомых, могут сходным образом влиять на аналогичные системы крупных животных, приводя к нарушению их функционирования. В связи со сказанным, в настоящее время изучение механизмов, лежащих в основе влияния инсектицидов на различные функциональные системы крупных животных, в частности рыб, чрезвычайно актуально. Среди ныне применяемых инсектицидов особое место занимают неоникотиноиды, способные с высокой аффинностью связываться с пресинаптическими н-холинорецепторами серотонинергических нейронов, блокируя, таким образом, их функциональную активность (Garduño et al., 2012).

В ранее выполненных исследованиях была продемонстрирована антимутагенная и детоксикационная активность серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка (СМАБ), находящегося в прямой зависимости от уровня серотонина (Мехтиев, 2000). Было обнаружено, что введение СМАБ животным снижает уровень мутагенных изменений в тканях молоди осетров, подвергнутых воздействию тяжёлых металлов и полиароматических углеводородов (Мехтиев, Мовсум-заде, 2008), и повышает выживаемость у мышей с индуцированным перитонитом (Аллахвердиева и др., 2019).

Целью данной работы являлось изучение влияния повышенной активности серотонинергической системы посредством прекондиционирования животных или введения им СМАБ на выживаемость особей сазанов, подвергнутых воздействию летальных концентраций инсектицида актары, относящегося к группе неоникотиноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на 7-месячных особях сазана (*Cyprinus carpio Linne*), выращенных в прудовых хозяйствах г. Нефтечала (Республика Азербайджан). Опыты были проведены в контейнерах объёмом 40 л, заполненных пресной водой с непрерывной искусственной аэрацией.

В 1-й серии исследований в результате наблюдения за выживаемостью особей сазанов массой 16-25 г на протяжении 5 сут определяли сублетальную концентрацию LC50 инсектицида актары для особей сазана. Влияние каждой из концентраций актары оценивали на 6 особях. Сублетальную дозу инсектицида актары LC50 для сазана вычисляли по программе Finney с учётом количества погибших особей под влиянием каждой из использованных в эксперименте концентраций инсектицида: 250 мг/л, 320 мг/л, 350 мг/л, 370 мг/л, 400 мг/л и 450 мг/л.

Во 2-й серии исследований исследовали феномен прекондиционирования в отношении инсектицида актары на особях сазанов массой 16-25 г. В этой серии животных разделили на 3 группы: 1) интактная группа (n=6); 2) контрольная группа – животных помещали в пресную воду с содержанием актары в концентрации 400 мг/л (n=6) и 3) опытная группа, животных которой помещали в пресную воду, содержавшую актару в концентрации 100 мг/л, а через 1 сут сазанов перекладывали в контейнер с пресной водой, содержавшей актару в концентрации 400 мг/л (n=6). В этой серии опытов также регистрировали количество погибших и выживших особей.

В 3-й серии исследований эксперименты были выполнены на особях сазанов массой 16-25 г. В этой серии животных разделили на 2 группы: 1) интактная (n=10) и 2) опытная (n=14). Особей сазана опытной группы помещали в контейнер с пресной водой, содержавшей актару в концентрации 100 мг/л и через 1 сут их умерщвляли, выделяли мозг и печень и методом непрямого твёрдофазного иммуноферментного анализа (НИФА) определяли уровень серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка (СМАБ), находящегося в прямой зависимости от уровня серотонина.

В 4-й серии исследования были выполнены на особях сазанов массой 16-25 г. Были созданы 2 группы животных: 1) контрольная группа – животных помещали в воду с содержанием актары 400 мг/л (n=17); 2) опытная группа – животным вводили СМАБ (1 мг на 10 г массы тела) и помещали в воду с содержанием актары 400 мг/л (n=15). Время экспозиции животных в загрязнённой инсектицидом воде составило 5 сут; при этом регистрировали количество выживших и особей.

В 5-й серии исследования проводили на особях сазанов массой 20-35 г. Животных разделили на 3 группы: 1) интактная группа (n=10); 2) контрольная группа – животным вводили инактивированный СМАБ (60°C на водяной бане, 35 мин; 1 мг на 10 г массы тела) и помещали в воду с содержанием актары 400 мг/л (n=10); 3) опытная группа – животным вводили СМАБ (1 мг на 10 г массы тела) и помещали в воду с содержанием актары 400 мг/л (n=10). Через 5 сут животных умерщвляли, забирали пробы печени, жабр и головного мозга и определяли в них уровень малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей (ГП; Asakawa, Matsushita, 1980).

Выделение СМАБ осуществляли из головного мозга быка. Основные этапы фракционирования: 1) осаждение сульфатом аммония в интервале 0-40%-ного насыщения; 2) гель-хроматография на колонке (3 Х 60 см) сефадекса G-150. Процесс фракционирования и отбора иммунопозитивных фракций контролировали НИФА с применением поликлональных иммуноглобулинов к СМАБ.

Уровень СМАБ в тканях сазана определяли методом НИФА на полистироловых планшетах с умеренным уровнем адсорбции (Sigma, Германия). При проведении анализа в качестве антигенов использовали суммарные белки, экстрагированные из головного мозга и печени сазана и доведённые до концентрации 20 мкг/мл с помощью 0.1 М буфера трис-HCl (pH 8.6). Концентрацию белка определяли по методу Бредфорд. При постановке НИФА в качестве первых антител использовали кроличьи иммуноглобулины к белку СМАБ, а в качестве вторых антител – козьи противокроличьи иммуноглобулины с конъюгированной пероксидазой хрена (Sigma, Германия). Как первые, так и вторые антитела разводили в буфере для антител (pH 7.4). Иммуноглобулины к СМАБ разводили в 40 раз, а вторые антитела – в 20000 раз.

Реакцию проводили следующим образом: в 1-й день в лунки в качестве антигенов заливали белковые экстракты исследуемых тканей. Через 20 ч лунки четырежды отмывали и заливали первые антитела. Через 24 ч лунки отмывали и приливали вторые антитела. Через 3 ч лунки отмывали и заливали субстрат пероксидазы хрена в виде 0.05%-ного раствора ортофенилендиамина в 0.05 М цитрат-фосфатном буфере (pH 4.5). Реакцию останавливали через 30 мин добавлением к каждую лунку по 50 мкл 3 М раствора гидроокиси натрия. Результаты реакции считывали на фотометре для иммуноферментного анализа "Molecular Devices Spectra Max 250" (MTX Lab Systems, Inc., США) на длине волны 492 нм (длина волны сравнения – 630 нм). Результаты исследования были усреднены по группам и сравнены по t–критерию Стьюдента.

Иммуноглобулины к СМАБ были получены в результате 5-6-месячной иммунизации кроликов (по 300 мкг СМАБ в смеси с равным объёмом полного адъюванта Фрейнда (Sigma, Германия). Поликлональные антитела к СМАБ были очищены из раствора иммуноглобулинов методом аффинной хроматографии на колонке CNBr-сефарозы с предварительно иммобилизованным СМАБ. Элюцию специфически связавшихся антител осуществляли 3 М раствором роданистого калия. Элюированные антитела были диализованы на холоде против 0.15 М хлористого натрия (pH 7.2) и замораживали. За один цикл с аффинной колонки элюируют до 12 мг антител (концентрацию антител определяли по методу Бредфорд).

Определение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) осуществляли по методу Asakawa и Matsushita (1980). При этом определяли уровни малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей (ГП) (Asakawa and Matsushita, 1980). Для подготовки проб забирали 1 г исследуемой ткани и гомогенизировали в 9 мл 0.2 М глицин-солянокислом буфере (pH 3.6) для получения 10%-й суспензии. Из этой суспензии забирали две аликвоты объёмом по 0.1 мл каждая и помещали в пробирки. Количество МДА и ГП рассчитывали по формуле: $C = D/\varepsilon \bullet 1$, где C – концентрация МДА и ГП, B – оптическое поглощение измеряемой пробы, ε – коэффициент молекулярного поглощения, равный $1.56 \bullet 10^5\ M^{-1} \cdot см^{-1}$. Уровень МДА измеряется в нМ/мг белка, тогда как уровень ГП – нМ/мг ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 1-й стадии исследований для определения летальной концентрации инсектицида актары семимесячных особей сазана (*Cyprinus carpio Linne*) массой 15-40 г помещали в контейнеры объёмом 40 л, заполненных пресной водой с непрерывной искусственной аэрацией. В каждый контейнер помещали по 6 особей и растворили гранулы актары в следующем порядке: 1-й – 250 мг/л, 2-й – 320 мг/л, 3-й –350 мг/л, 4-й – 370 мг/л, 5-й – 400 мг/л и 6 – 450 мг/л (Табл. 1). При концентрации инсектицида 250 мг/л за 5 сут выжили все животные, при концентрации 320 мг/л погибло 1 животное из 6, при 350 мг/л – погибло 2 животных из 6, при 370 мг/л – 3 животных из 6, при 400 мг/л и выше – погибли все животные (таблица 1). Расчёт

среднелетальной концентрации LC 50 инсектицида актары в пресной воде для особей сазана позволил установить, что она равна 360 мг/л.

Во 2-й серии исследований была изучена возможность формирования феномена прекондиционирования в отношении воздействия инсектицида актары. Было обнаружено, что в группе животных из опытной группы, которых помещали в воду с концентрацией актары 400 мг/л, все особи погибли в течение первых суток после начала экспозиции. Вместе с тем, в группе контрольных животных, которых предварительно выдерживали в течение 1 сут в воде, содержавшей инсектицид актару в концентрации 100 мг/мл, после перевода животных в воду, содержавшую инсектицид в концентрации 400 мг/мл, по прошествии 5 сут выжили все особи (p<0.001).

Таблица 1. Расчёт сублетальной концентрации LC50 инсектицида актары для особей сазана по Finney (1971)

Концентрация актары, мг/л	Число погибших/общее число особей	LC50
450	1.0 (n=6)	360
400	1.0 (n=6)	
370	0.50 (n=6)	
350	0.33 (n=6)	
320	0.17 (n=6)	
250	0 (n=6)	

Для изучения подлежащих молекулярных механизмов феномена прекондиционирования в отношении инсектицида актары были проведены следующие исследования. В 3-й серии исследований определение уровня СМАБ в головном мозге и печени особей сазана, содержавшихся в течение 1 сут в воде с примесями инсектицида актары в концентрации 100 мг/л, выявило значительное его повышение в головном мозге и печени у особей сазана опытной группы относительно его уровня в тканях интактных животных, особенно выраженное в печени (на 57%; Рис. 1).

В частности, в головном мозге животных опытной группы уровень СМАБ составлял 0.186±0.003 оптических единиц, а у интактных животных – 0.199±0.001 опт. ед. (p<0.001). В печени животных опытной группы уровень СМАБ составлял 0.105±0.005 опт. ед., в то время как в печени интактных его уровень равнялся 0.067±0.005 опт. ед. (p<0.001). Таким образом, содержание особей сазана в течение суток в воде с примесями актары в концентрации 100 мг/л индуцирует повышение уровня СМАБ в тканях животных.

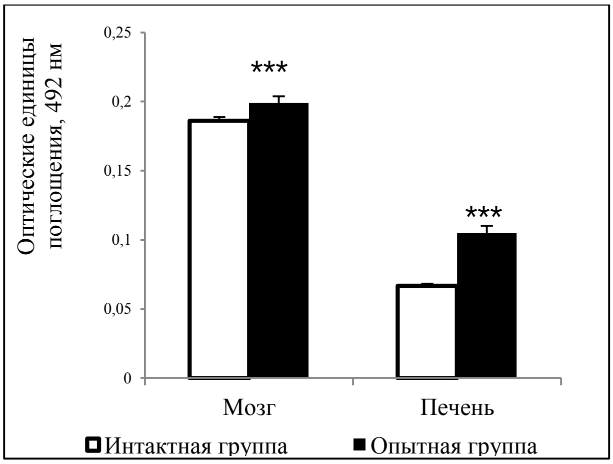


Рисунок 1. Влияние прекондиционирования особей сазана при концентрации пестицида актары в среде 100 мг/л на уровень СМАБ в тканях. *** - p<0.001.

В 4-й серии исследований было обнаружено, что внутримышечное введение СМАБ животным перед помещением в воду, содержавшую летальную концентрацию инсектицида актары (400 мг/л), приводит к выживанию всех особей из опытной группы в течении 5 сут, тогда как в контрольной группе за этот период выжило лишь 35% (6 из 17) животных (p<0.001; Рис. 2).

В 5-й серии исследованиях по завершении 5-суточной экспозиции выжили все особи сазана из обеих групп. Было обнаружено значительное усиление уровня ПОЛ в печени, жабрах и головном мозге особей сазана под влиянием экспозиции в сублетальной дозе инсектицида актары.

Следует отметить, что характер изменения уровня МДА и ГП в указанных тканях под влиянием инсектицида носил не однонаправленный характер. В частности, если в печени и головном мозге контрольных животных, которым перед помещением их в воду с примесями инсектицида вводили инактивированный СМАБ, отме-

чалось снижение уровня МДА и ГП по сравнению с интактными животными, то в жабрах у этих особей, напротив, наблюдалось увеличение уровня этих показателей ПОЛ. В частности, уровень МДА в печени особей контрольной группы был равен $1.85\times10^{-8}\pm0.93\times10^{-8}$ мкМ/мг белка, тогда как у интактных животных он равнялся $2.136\times10^{-6}\pm1.89\times10^{-7}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 3). Уровень ГП в контрольной группе животных был равен $2.128\times10^{-6}\pm5\times10^{-7}$ мкМ/мг ткани, а у интактных животных – $2.64\times10^{-6}\pm5.9\times10^{-7}$ мкМ/мг ткани.

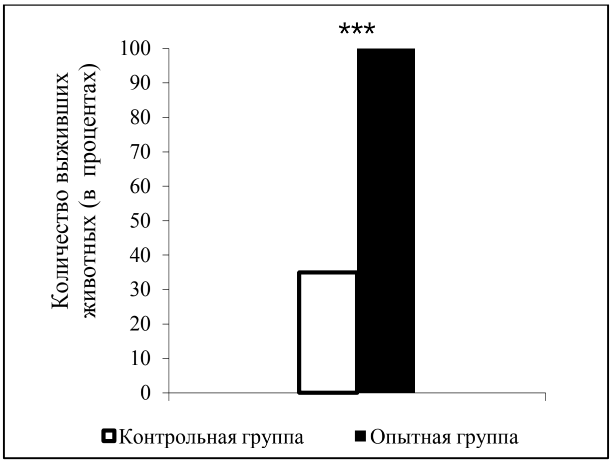


Рисунок 2. Влияние в.м. введения СМАБ на выживаемость особей сазана, подвергнутых воздействию инсектицида актары. *** - $p<0.001$.

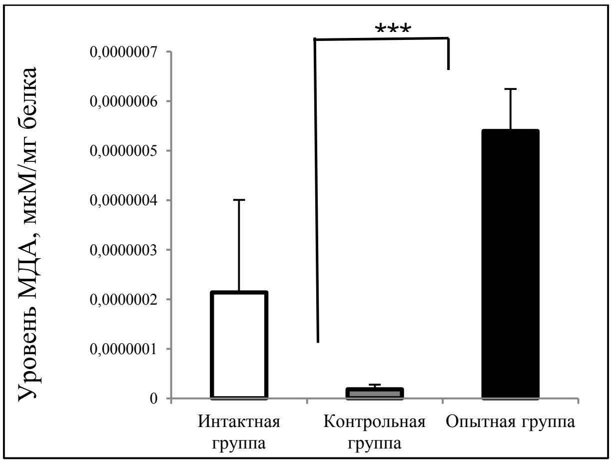


Рисунок 3. Влияние СМАБ на уровень МДА в печени особей сазана на фоне действия инсектицида актары. *** - $p<0.001$.

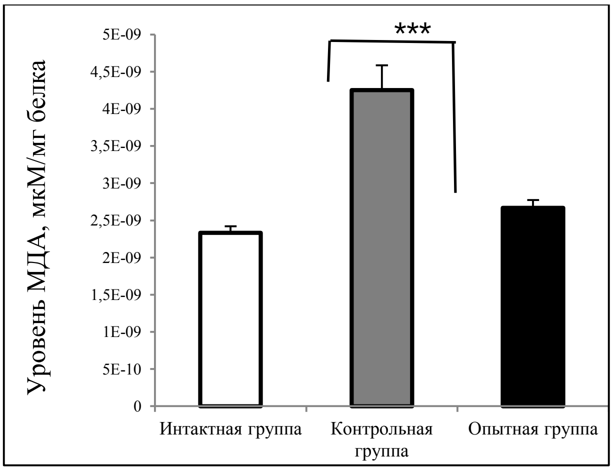


Рисунок 4. Влияние СМАБ на уровень МДА в жабрах особей сазана на фоне действия инсектицида актары. *** - $p<0.001$.

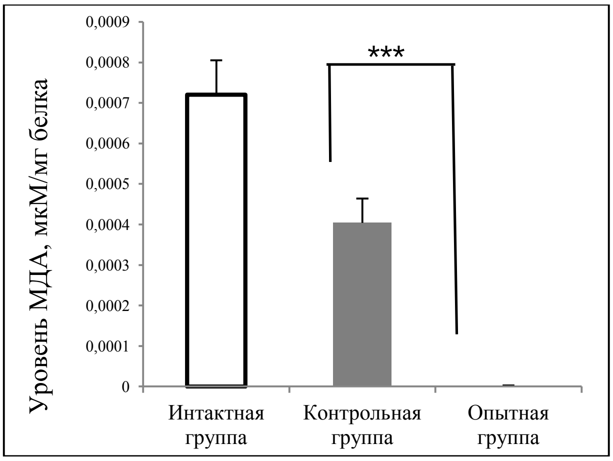


Рисунок 5. Влияние СМАБ на уровень МДА в головном мозге особей сазана на фоне действия инсектицида актары. *** - $p<0.001$.

В жабрах особей контрольной группы уровень МДА был равен 4.25×10^{-9} $\pm3.36\times10^{-10}$ мкМ/мг белка, тогда как у особей интактной группы – 2.33×10^{-9} $\pm8.6\times10^{-11}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 4). Уровень ГП в жабрах особей контрольной группы был равен $1.029\times10^{-6}\pm9.27\times10^{-8}$ мкМ/мг ткани, а у особей интактной группы – 7.75×10^{-9} $\pm2.89\times10^{-10}$ мкМ/мг ткани ($p<0.05$). В головном мозге особей контрольной группы уровень МДА был равен $4\times10^{-4}\pm6\times10^{-5}$ мкМ/мг белка, а у животных интактной группы его уровень соответствовал $7.2\times10^{-4}\pm8.5\times10^{-5}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 5). Уровень ГП в головном мозге особей контрольной группы

был равен 0.0028±0.00034 мкМ/мг ткани, в то время как у интактных животных их уровень равнялся 0.0044±0.00045 мкМ/мг ткани ($p<0.001$; Рис. 6).

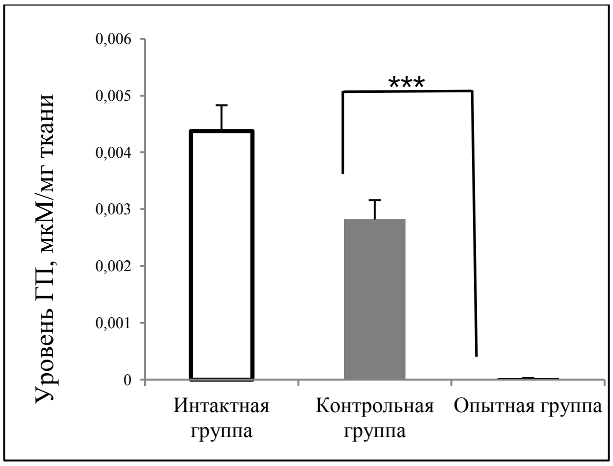


Рисунок 6. Влияние СМАБ на уровень ГП в головном мозге особей сазана на фоне действия актары. *** - $p<0.001$.

Таким образом, экспозиция особей сазана в воде с сублетальной дозой инсектицида актары вызывает снижение уровней МДА и ГП в печени и головном мозге рыб. У животных опытной группы, которым перед помещением в воду, содержавшую инсектицид актару в сублетальной концентрации, внутримышечное введение СМАБ вызывало значительное изменение обоих показателей ПОЛ в исследованных тканях. В печени животных опытной уровень МДА был значительно выше, чем в контрольной группе животных и был равен $5.39\times10^{-7}\pm8.54\times10^{-8}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 3).

В жабрах животных опытной группы уровень МДА был значительно ниже, чем в контрольной группе животных и равен $2.67\times10^{-9}\pm1.09\times10^{-10}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 4) так же, как и уровень ГП в опытной группе, который был значительно ниже контрольного уровня и равнялся $7.29\times10^{-7}\pm6.14\times10^{-8}$ мкМ/мг ткани ($p<0.05$).

В головном мозге особей опытной группы уровень МДА был значительно ниже, чем в контрольной группе животных и равен $2.33\times10^{-6}\pm4.2\times10^{-6}$ мкМ/мг белка ($p<0.001$; Рис. 5). Уровень ГП в головном мозге особей опытной группы также был значительно ниже, чем в контрольной группе животных и равен $2.1\times10^{-5}\pm1\times10^{-5}$ мкМ/мг ткани ($p<0.001$; Рис. 6).

Таким образом, внутримышечное введение СМАБ особям опытной группы перед помещением их в воду, содержавшую инсектицид актару в сублектальной концентрации, приводит к нормализации уровней МДА и ГП в печени и жабрах животных, тогда как в головном мозге особей этой группы отмечается ещё большее снижение уровней МДА и ГП.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования продемонстрировали возможность формирования феномена прекондиционирования у особей сазана в отношении инсектицида актары, относящегося к группе неоникотиноидов. Большая часть опубликованных до сих пор результатов исследований касалась формирования прекондиционирования в отношении неблагоприятных факторов физической природы (Li et al., 2017; Maslov et al., 2012).

Как было выявлено ранее, инсектициды группы неоникотиноидов воздействуют на никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (н-холинорецепторы) в пресинаптических участках серотонинергических нейронов. При этом н-холинорецепторы, локализованные в пресинаптических участках и на теле серотонинергических нейронов, оказывают модулирующее влияние на активность этих нейронов в дорсальных ядрах шва ствола головного мозга (Garduño et al., 2012). Итогом воздействия инсектицидов группы неоникотиноидов на н-холинорецепторы пресинаптических участков является снижение активности серотонинергических нейронов. Как показали результаты многолетних исследований первооткрывателя периферической серотонинергической нервной системы проф. В.М. Смирнова (Смирнов и др., 2015), наряду с симпатической и парасимпатической нервными системами в организме человека и животных присутствует также серотонинергическая нервная система, пронизывающая все периферические органы и ткани.

Проведенными исследованиями в различных сериях было выявлено и доказано, что в ос-

нове феномена прекондиционирования в отношении инсектицида актары лежит повышение активности серотонинергической системы в различных тканях животных. При этом, с одной стороны, определение уровня серотонин-модулируемого белка СМАБ выявило его повышение в тканях особей сазана, подвергнутых процедуре прекондиционирования в отношении инсектицида, а с другой стороны, внутримышечное введение СМАБ животным способствовало выживанию всех особей из опытной группы в условиях воздействия летальной дозы инсектицида, от воздействия которой погибла большая часть животных из интактной и контрольной групп во 2-й и 4-й сериях исследования.

В ранее проведенных исследованиях было обнаружено, что снижение уровня СМАБ в результате продолжительного воздействия неблагоприятных факторов химической природы, истощающего внутренние ресурсы организма, одновременно приводит к резкому, многократному возрастанию уровня мутагенных изменений в соматических клетках организма (Мехтиев и др., 2010). С другой стороны, блокада его активности поликлональными антителами без какого-либо воздействия неблагоприятных факторов также вызывает заметное увеличение уровня мутагенных изменений в соматических тканях (Мехтиев и др., 2010). Приведенные результаты исследований указывают на геномпротекторную и антимутагенную активность СМАБ. Следовательно, снижение уровня СМАБ в клетках в результате воздействия неблагоприятных факторов на организм животных позволяет раскрыть подлежащие механизмы негативного воздействия инсектицида актары на функционирование периферических органов и тканей.

Результаты ранее проведенных исследований в Институте физиологии им. академика Абдуллы Караева продемонстрировали, что введённый извне СМАБ стимулирует усиленный синтез БТШ70 в тканях животных. В частности, внутримышечное введение мышам СМАБ приводит через 5 ч к регистрируемому методом вестерн-блотинга резкому увеличению уровня БТШ70 в печени, не выявляемое у интактных животных (Аллахвердиева и др., 2019). При проведении опытов на крысах регистрация уровня экспрессии БТШ70 в печени у крыс через разные интервалы времени (1.5, 3 и 5 ч) после внутрибрюшинного введения СМАБ позволила выявить, что в наибольшей степени уровень БТШ70 возрастал через 3 ч (Nurullayeva et al., 2017). В проведенных нами экспериментах на кроликах со сформированной пигментной дистрофией сетчатки с помощью НИФА также было обнаружено, что введение СМАБ в стекловидное тело глаза вызывает многократное повышение уровня БТШ70 в сетчатке у животных (Исмайлова, Мехтиев, 2018). Вместе с тем, из данных литературы, а также из ранее полученных результатов исследований лаборатории «Молекулярных основ интегративной деятельности» известно, что БТШ70, являясь белками-шаперонами, обеспечивают защиту клеток тканей организма от воздействия неблагоприятных факторов различной природы, в том числе химической (токсины химической и бактериальной природы). Принимая во внимание эти данные, становятся понятными результаты 2-й и 4-й серий исследований. В 4-й серии исследований повышение уровня выживаемости у животных опытной группы, подвергнутых воздействию летальной дозы инсектицида актары, под влиянием предварительно введённого СМАБ, вероятно, связано с индукцией в их тканях синтеза БТШ70, обеспечивающих защиту клеток от повреждающего воздействия инсектицида.

Исследования, в которых искусственным образом снижали уровень БТШ70, продемонстрировали важную роль БТШ70 в процессах апоптоза. Было обнаружено, что клетки, лишенные двух генов, регулирующих синтез БТШ70, *hsp70.1* и *hsp70.3*, чрезвычайно чувствительны к апоптозу, индуцированному различными неблагоприятными воздействиями (Schmitt et al., 2003). Вместе с тем, в исследованиях, выполненных на клетках злокачественных опухолей, было выявлено, что снижение уровня БТШ70 в этих клетках приводит к их спонтанному апоптозу (Nylandsted et al., 2000). Следовательно, истощение ресурсов серотонинергических системы организма, приводящее к снижению синтеза БТШ70, может быть причиной апоптоза клеток особей сазана, подвергнутых воздействию инсектицида актары.

Выявленный в данной работе эффект инсектицида актары в виде снижения уровней

МДА и ГП в тканях печени и головного мозга, возможно, обусловлен истощением ресурсов серотонинергической системы организма животных. С другой стороны, повышение активности этой системы в результате феномена прекондиционирования или введения животным СМАБ, напротив, вызывает нормализацию показателей ПОЛ посредством снижения их значений в жабрах и повышения ПОЛ в печени до уровня интактных животных. Вместе с тем, в жабрах животных под влиянием инсектицида наблюдалась динамика уровней МДА и ГП, отличная от их динамики в печени и головном мозге, возможно, обусловленная непосредственным воздействием инсектицида на клеточные элементы жабр.

Полученные в данном исследовании результаты влияния СМАБ на уровни МДА и ГП в тканях, включая головной мозг, подвергнутых воздействию инсектицида актары особей сазана совпадают с ранее изученным характером его влияния на эти показатели в тканях молоди осетров, содержавшихся в воде с примесями полиароматических углеводородов (ПАУ) и тяжёлых металлов (Бахшалиева и др., 2010). В указанных опытах также наблюдалось заметное повышение уровней МДА и ГП и восстановление их уровней у экспонированных в неблагоприятных условиях животных опытной группы под влиянием СМАБ до их значений у интактных животных. Вместе с тем, полученные ранее результаты влияния блокады СМАБ антителами на уровни МДА и ГП, оказывающей воздействие, однонаправленное с влиянием ПАУ и тяжёлых металлов на эти показатели ПОЛ (Бахшалиева и др., 2010), раскрывают характер влияния сублетальных концентраций инсектицида на ткани особей сазанов.

ЛИТЕРАТУРА

Аллахвердиева Т.Н., Мехтиев Х.Ш., Гайсина А.А., Мехтиев А.А. (2019) Серотонин-модулируемый антиконсолидационный белок способствует выживанию животных разных видов при воздействии бактериальных и химических токсинов. *Журнал эволюц. биохимии и физиологии*, **55(1):** 23-27.

Бахшалиева Р.Р., Мехтиев А.А., Касимов Р.Ю. (2010) Участие серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка в опосредовании воздействия неблагоприятных факторов на уровень пол в тканях молоди осетра. *Журнал эволюц. биохимии и физиологии*, **46(5):** 370-374.

Исмайлова У.С., Мехтиев А.А. (2018) Исследование репаративных механизмов в сетчатке и гипоталамусе, обеспечивающих восстановление родопсина в условиях дистрофии сетчатки у кроликов. *Вестник офтальмологии*, **134(5):** 39-46.

Мехтиев А.А. (2000) Обнаружение в головном мозге крыс белка, обладающего антиконсолидационными свойствами. *Бюллетень эксперим. биол. мед.,* **129(8):**147-150.

Мехтиев А.А., Мовсум-заде С.К. (2008) Антимутагенная активность серотонинергической системы и подлежащие механизмы у молоди осетров (*Acipenser gueldenstaedti persicus*) и серебряных карасей (*Carassius auratus*). *Журнал эволюц. биохимии и физиологии*, **44(5):** 476-481.

Мехтиев А.А., Палатников Г.М., Мовсум-заде С.К., Касимов Р.Ю. (2010) Возрастание уровня мутаций в тканях бычков и молоди осетров в условиях блокады антителами серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка. *Журнал эволюц. биохимии и физиологии*, **46(5):** 375-379.

Смирнов В.М., Свешников Д.С., Циркин В.Н. (2015) Серотонинергические нервы. Москва: Медицинское информационное агенство, 376 с.

Asakawa T., Matsushita S. (1980) Coloring condition of TBA test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids,* **15(3):**137-140.

Garduño J., Galindo-Charles L., Jiménez-Rodríguez J et al. (2012) Presynaptic α4β2 nicotinic acetylcholine receptors increase glutamate release and serotonin neuron excitability in the dorsal raphe nucleus. *J. Neuroscience*, **32(43):** 15148-15157

Li S., Hafeez A., Noorulla F., Geng X., Shao G., Ren Ch., Lu G., Zhao H., Ding Y., Ji X. (2017) Preconditioning in neuroprotection: From hypoxia to ischemia. *Prog. Neurobiol*., **157(1):** 79–91.

Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Kolar F. et al. (2012) Hypoxic preconditioning – a phenomenon increasing the tolerance of cardiomyocytes to

hypoxia / reoxygenation. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **42(4):** 380–391.

Nurullayeva A.N., Aminov A.V., Shamilov E.N., Abdullayev A.S., Palatnikov G.M., Mekhtiev A.A. (2017) Preventive application of serotonin-modulating anticonsolidation protein (smap) from radiation damage. "Радіоекологія-2017". *Науково-практичної конференції із міжнародною участю. Збірник статей.* Київ, к. 21-23.

Nylandsted J., Rohde M., Brand K., Bastholm L., Elling F., Jaattela M. (2000) Selective depletion of heat shock protein 70 (Hsp70) activates a tumor‑ specific death program that is independent of caspases and bypasses Bcl‑ 2. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, **97:**7871‑ 9876.

Schmitt E., Parcellier A., Gurbuxani S. et al. (2003) Chemosensitization by a non-apoptogenic heat shock protein 70‑ binding apoptosis‑ inducing factor mutant. *Cancer Res*., **63:** 8233‑ 8240.

Aktara neonikotinoid insektisidinə qarşı serotoninergik sisteminin antiapoptotik funksiyası

T.N. Allahverdiyeva[1], A.V. Aminov[2], A.Ə. Mehdiyev[2]

[1]AR KTN Azərbaycan Dövlət Aqrar Universiteti, Gəncə, Azərbaycan
[2]AMEA-nın akademik A.Qarayev adına Fiziologiya İnstitutu, Bakı, Azərbaycan

Aktara neonikotinoid insektisidinin təsirindən prekondisionlaşma fenomenində və toxumaların müdafiəsində serotoninergik sistemi öyrənilmişdir. Çəki (*Cyprinus carpio Linne*) fərdlərinin üzərində Finney üsulu vasitəsilə aktara insektisidinin subletal qatılığı hesablanılıb. Aktara insektisidinin letal qatılığına (400 mq/l, 1gün) qarşı prekondisionlaşma proseduru ilə balıqlarda dözümlülük yaradılırdı. Balıqların beyni və qaraciyərində dolayı immuno-enzim analizi üsulu ilə serotonin miqdarı ilə düz mütanasib əlaqəsində olan serotonin-modullu antikonsolidasiya zülalının (SMAZ; Mekhtiev, 2000) miqdarı təyin olunub. İnsektisidin letal qatılığının fonunda çəki fərdlərinin sağ qalmasına SMAZ-ın əzələdaxili yeridilməsinin təsiri öyrənilib. SMAZ-ın əzələdaxili yeridilməsini almış və insektisidin letal qatılığının təsirinə məruz qalmış çəki fərdlərinin beyin, qaraciyər və qəlsəmələrində malon dialdehid və hidroperoksidlər miqdarlarının əsasında Asakawa və Matsuşita üsulu (1980) ilə lipidlərin peroksidləşməsinin miqdarı müəyyən olunub. Çəki fərdləri üçün aktara insektisidinin subletal qatılığı 360 mq/l bərabərdir. Göstərilir ki, aktara insektisidinin letal dozasına məruz qalmış çəki balığı fərdlərində bu insektisidə qarşı prekondisionlaşma prosesinin aparılması və ya serotonin-modullu antikonsolidasiya zülalının onlara əzələdaxili yeridilməsindən heyvanların sağ qalmasına və onların toxumalarında lipidlərin peroksidləşməsinin səviyyəsinin normallaşdırılmasına imkan yaradır. Çəki fərdlərinin üzərində aktara neonikotinoid insektisidinin letal qatılıqlarına qarşı SMAZ-ın antiapoptotik fəallığının olması nəticəsinə gəlinir.

Açar sözləri: *Aktara neonikotinoid insektisidi, çəki balığının fərdləri, prekondisionlaşma fenomeni, serotonin-modullu antikonsolidasiya zülalı (SMAZ), lipidlərin peroksidləşməsi*

Anti-apoptotic activity of serotonergic system towards neonicotinoid actara

T.N.Allahverdiyeva[1], A.V.Aminov[2], A.A.Mekhtiev[2]

[1]*Azerbaijan State Agrarian University, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan, Ganja, Azerbaijan*
[2]*Academician A. Garayev Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan*

The role of serotonergic system in the phenomenon of preconditioning and protection of fish tissues from impact of neonicotinoid insecticide actara has been studied. Sub-lethal concentration of insecticide actara was calculated for the specimens of sazan *(Cyprinus carpio Linne)* with the application of the Finney method. The resistance to the lethal concentrations (400 mg/L, 5 days) of insecticide actara in the fish was created using the preconditioning procedure (100 mg/L, 1 day). The level of serotonin-modulating anticonsolidation protein (SMAP; Mekhtiev, 2000), being in linear relationship with serotonin, was measured in the fish brain and liver using the indirect solid-phase ELISA-test. The effects of i.m. administration of SMAP on survival of sazan specimens under impact of the lethal concentrations of insecticide were studied. Using the technique by Asakawa and Matsushita (1980), lipid peroxidation levels were determined based on the levels of malone dialdehyde and hydroperoxides in the brain, liver and gills of the sazan specimens subjected to the impact of sub-lethal concentrations of insecticide and i.m. administered with SMAP. Sub-lethal concentration of insecticide actara for sazan specimens was equal to 360 mg/L. It was shown that artificial upregulation of serotonergic system as a result of pre-conditioning towards insecticide actara or i.m. administration of SMAP to the sazan specimens, subjected later to the impact of lethal concentrations of insecticide actara, promotes their survival and normalization of lipid peroxidation in their tissues. The conclusion concerning anti-apoptotic activity of SMAP towards the impact of the lethal concentrations of neonicotinoid insecticide actara in the sazan specimens has been made.

Keywords: *Neonicotinoid insecticide actara, sazan specimens, pre-conditioning phenomenon, serotonin-modulating anticonsolidation protein (SMAP), lipids peroxidation*